

取扱説明書

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットサルモネラ属菌

使用目的

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットサルモネラ属菌は、食品、飼料、ならびに環境中のサルモネラ属菌を迅速に検出することができます。通常 24 時間以内に、対象菌の検出および推定同定が可能です。

AOAC Research Institute の Performance Tested MethodSM (PTM) 評価試験では、本キットが以下のマトリックスにおいて、*Salmonella enterica* の検出に有効な方法であることが確認されています。

また、本キットに使用されている抗体は、O 抗原群 A~E に属する *Salmonella enterica* の血清型と反応します。これには、食品由来および非食品由来の最も一般的な血清型が含まれます^{1,2}。なお、O 抗原群 A~E に属さない血清型は検出されません。

粉乳、アイスクリーム、生牛ひき肉、生鶏ひき肉、生豚ひき肉、生ソーセージ、生七面鳥ひき肉、加熱済み鶏肉、ホットドッグ、調理済み食品、鶏屠体リンス液、牛皮、豚皮、カニむき身、生エビ、カンタロープメロン、生ほうれん草、ピーナッツバター、液卵、冷凍全卵、ドライペットフード、大豆ミール、家禽用飼料、スプラウト灌漑水、ならびにステンレス鋼表面から採取したスポンジサンプル

検出原理

本キットでは Revive 培地を使用し、ストレスまたは損傷を受けた状態からサルモネラ属菌の回復に必要な栄養素や因子を速やかに供給します。さらに Revive 培地による短時間の増菌後、Rappaport-Vassiliadis (RV) 選択増菌培地を用いてサルモネラ属菌の増殖を促進させることで、テストストリップで検出可能なレベルに達します。

その後、増菌培養後の試料液をサンプルカップに 200 µL 分注し、テストストリップを挿入して室温で 15 分間反応させます。

試料液は、コロイド金粒子と結合した抗サルモネラ属菌特異抗体を含む試薬ゾーンを毛細管現象により通過し、試料液中に抗原が存在する場合、金標識抗体と結合します。形成された抗原-抗体複合体は試薬ゾーンを離れ、抗サルモネラ属菌抗体が固定化されたニトロセルロース膜上の捕捉ゾーンへ移動します。ここで金標識を伴う免疫複合体が捕捉・集積され、可視的なラインとして表示されます。また、残りの試料液は膜の末端へ移動し、廃液リザーバーに吸収されます。

試薬ゾーンには独自抗原に結合した金標識コンジュゲートも含まれています。これはサルモネラ属菌抗原の有無に関わらず、試料液によって溶出されます。この金標識コントロールインジケーターは膜内を移動し、陰性コントロール捕捉ゾーン（独自抗原に対する抗体）に到達すると捕捉・集積され、可視的なラインを形成します。陰性コントロール捕捉ゾーンには、サルモネラ属菌抗原の有無に関係なく必ずラインが形成されるため、検査が正常に機能していることが確認できます。

対象使用者

本キットは、サルモネラ属菌の分離および同定に関する適切な無菌操作技術に習熟した担当者による使用を想定して設計されています。



製品情報

カタログ製品番号：9803

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットサルモネラ属菌 コンプリートシステム (RV)

#		入り数/箱
1	リビール™ 2.0 イムノクロマトキットサルモネラ属菌 テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	使い捨てサンプルカップ	20 本
4	Revive 培地 (滅菌済み、分包)	20 袋
5	倍濃度 Rappaport-Vassiliadis (2×RV) 選択増菌培地 (滅菌済み、分包)	20 袋
6	使い捨てストマッカー用バック	20 袋
7	計量カップ	1 個

カタログ製品番号：9706

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットサルモネラ属菌 テストストリップ

#		入り数/箱
1	リビール™ 2.0 イムノクロマトキットサルモネラ属菌 テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	使い捨てサンプルカップ	20 本

その他必要な器具と資材の例

- 最低 25 g の計量が可能な秤
- タイマー
- サンプルカップラック
- 滅菌精製水
- インキュベーター (42±1℃)
- インキュベーター (36±1℃)

保管条件

テストストリップおよび粉末培地は、室温 (15~30℃) で保管してください。

※M-broth のみ冷蔵 (2~8℃) で保管してください。

異なる品目への適用

妥当性確認されている対象品目の最新リスト、または特定品目に関するバリデーション試験については、Neogen 担当者までお問い合わせください。

注意事項

1. 使用期限切れの培地やテストストリップは使用しないでください。
2. 水和した培地は、調製後 6 時間以内に使用してください。
3. 指定されていない培養時間や培養温度を使用すると、誤った結果が得られる可能性があります。



4. サンプルバッグは、培養中に空気交換ができるよう完全に密閉せず緩めに閉じてください。これは、十分かつ検出可能な菌の増殖に不可欠です。
5. 滅菌精製水は、Revive 培地水和時には 42°C、2×RV 培地水和時には 36±1°Cに温めて使用してください。
6. 増菌培養後は、6 時間以内に試験を行ってください。
7. 適切な微生物学的実験室作業手順（GLP）を遵守してください。

培地・試料液調製および増菌培養

増菌法 1 (Revive / RV) — 多くの食品および環境サンプル

※カンタロープメロン、アイスクリーム、調理済み食肉製品、ステンレス鋼表面でバリデーション済み³

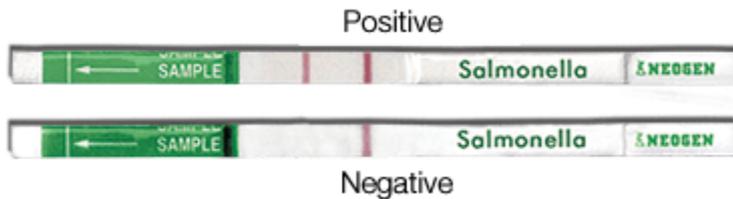
1. Revive 培地（アルミパウチ 1 袋、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42°Cに温めた滅菌精製水 200 mL を加えます。
2. バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
3. マトリックス 25 g（室温）または環境用スポンジサンプルを Revive 培地入りバッグに加えます。
4. バッグ上部をしっかりと持ちもみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
5. バッグを軽く閉じ、ラック等に置き、36±1°Cで 4 時間培養します。
6. 2×RV 培地（アルミパウチ 1 袋、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 36±1°Cに温めた滅菌精製水 200 mL を加えます。
7. 完全に溶解するまで激しく混和し、調製後、使用まで 42°Cで保持します。
8. 培養液をインキュベーターから取り出し、42°Cに温めた 2×RV 培地 200 mL を培養液が入ったバッグに全量加えます。
9. バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、左右にゆっくり動かして混和します。
10. バッグを軽く閉じ、42±1°Cで 16~24 時間培養します。

反応

1. 必要な数のテストストリップを容器から取り出します。
2. 培養液をインキュベーターから取り出し、十分に混和します。
3. ピペッターまたは付属の使い捨てスポイトを用いて、200 µL（または 8 滴）をサンプルカップに分注します。なお、サンプルカップに分注した後は、10 分以上放置せず、速やかにテストストリップをカップに挿入してください。
4. テストストリップの矢印が下向きになるようカップに挿入し、室温で 15 分間反応させます。
5. 15 分後、直ちに（60 秒以内に）試験結果を観察・記録します。

結果判定

1. 15 分以内にコントロールラインとテストラインの両方が出現した場合：陽性
2. 15 分以内にコントロールラインのみが出現した場合：陰性
3. コントロールラインが出現しない場合：無効 →新たなテストストリップを用いて再検査すること



注意：サルモネラ属菌が存在する場合、テストストリップのテスト領域には明確なラインが形成されます。ラインの濃淡は、血清型や菌濃度により異なる場合があります。ただし、濃淡に関係なく明確な可視ラインが確認された場合は陽性と判断してください。また、RV 増菌培地由来の青色色素がテストストリップへ移行しても、結果には影響しません。

確認試験

推定陽性となった場合は、BAM⁴または MLG⁵に記載された方法に従い、Revive/RV 培養液を用いて培地への塗抹による確認試験を行うことを推奨しています。

注意：再試験を実施した場合、同じ結果が得られない場合があります。これは、菌が試料全体に均一に分布しているとは限らず、再試験において対象菌が含まれない可能性があるためです。

廃棄

テストストリップ、スポイトおよびサンプルカップ、各増菌培地等は、適用されるすべての地域の規制に従い、オートクレーブ処理、漂白剤処理等を行った上で廃棄してください。

安全性

関連する製品安全データシート（SDS）を参照してください。

利用規約

ご利用規約全文は以下のリンクからご覧いただけます。 <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

保証

NEOGEN Corporation は、製品の原材料が標準的な品質であることを除き、明示または黙示を問わずいかなる保証も行いません。材料に欠陥がある場合、NEOGEN は製品を交換いたします。購入者は、本製品の使用に関するすべてのリスクと責任を負うものとします。本製品の商品性、またはいかなる目的に対する製品の適合性も保証しません。NEOGEN は、本製品の使用により直接的または間接的に生じる特別損害もしくは結果的損害、または費用を含むいかなる損害についても責任を負わないものとします。

参考文献

[1, 2] Galanis, E. et al. (2006) Emerg. Infec. Dis. 12, 381-388, www.who.int/salmsurv

[3] In an AOAC Research Institute Performance Tested MethodSM study

[4] <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070149>

[5] http://www.fsis.usda.gov/Science/Microbiological_Lab_Guidebook/index.asp



Appendix (増菌プロトコル一覧)

#	方法	対象製品	対象マトリックス
増菌法 1	Revive /RV 法	9803	多くの食品および環境サンプル（カンタロープメロン、アイスクリーム、調理済み食肉製品、ステンレス鋼表面でバリデーション済み ³⁾ ）
増菌法 2A	直接 RV 法	9802	特定食品（鶏屠体リンス、生七面鳥ひき肉、生牛ひき肉、生エビでバリデーション済み ³⁾ ）
増菌法 2B	直接 RV 法	9802	デリミートおよび調理済み食肉製品（ホットドックでバリデーション済み ³⁾ ）
増菌法 2C	直接 RV 法	9706	スプラウト灌漑水
増菌法 3	Revive/RV /M-broth	9805	残留抗原を含む可能性がある、粘度が高い、または色素を多く含むマトリックス（ドライペットフードでバリデーション済み ³⁾ ）
増菌法 4	RV/M-broth	9802/ M-broth	生ほうれん草
増菌法 5	乳糖バイオン /RV	9802/ 乳糖バイオン	ピーナッツバターでバリデーション済み ³⁾

増菌法 2A (直接 RV 法) — 特定の食品 (生牛ひき肉、生鶏ひき肉、生シーフード、家禽屠体リンス液)

- RV 培地（アルミパウチ 1 袋、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42°C に温めた滅菌精製水 200 mL を加えます。
- バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
- マトリックス 25 g（室温）または鶏屠体リンス 30 mL を 1×RV 培地入りバッグに加えます。
- バッグ上部をしっかりと持ちもみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
- バッグを軽く閉じ、42 ± 1°C で 20~24 時間培養します。

増菌法 2B (直接 RV 法) — デリミートおよび調理済み食肉製品

- RV 培地（Neogen 品番：9716）68.9 g を大型ストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42°C に温めた滅菌精製水 2.6 L を加えます。
- バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
- マトリックス 325 g（室温）を RV 培地入りバッグに加えます。
- バッグ上部をしっかりと持ちもみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
- バッグを軽く閉じ、42 ± 1°C で 20~24 時間培養します。

増菌法 2C (直接 RV 法) — スプラウト灌漑水

1. RV 培地 19.9 g (Neogen 品番 9716) を大型ストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42°C に温めた滅菌精製水 375 mL を加えます。
2. バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
3. スプラウト灌漑水 375 mL を RV 培地入りバッグに加えます。
4. バッグ上部をしっかりと持ちもみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
5. バッグを軽く閉じ、42 ± 1°C で 20~24 時間培養します。

増菌法 3 (Revive/RV — M-broth)

— 残留抗原を含む可能性がある、粘度が高い、または色素を多く含むマトリックス

1. Revive 培地をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42°C に温めた滅菌精製水 200 mL を加えます。
2. バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
3. マトリックス 25 g (室温) を Revive 培地入りバッグに加えます。
4. バッグ上部をしっかりと持ち、もみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
5. バッグを軽く閉じ、36 ± 1°C で 4 時間培養します。
6. 2×RV 培地をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 36 ± 1°C に温めた滅菌精製水 200 mL を加えます。
7. 完全に溶解するまで激しく混和し、調製後、42°C で使用まで保持します。
8. 培養液をインキュベーターから取り出し、42°C に温めた 2×RV 培地 200 mL を培養液が入ったバッグに全量加えます。
9. バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、左右にやさしく動かして混和します。
10. バッグを軽く閉じ、42 ± 1°C で 16~24 時間培養します。
11. M-broth 1 本 (Neogen 品番 9722) に、あらかじめ 36 ± 1°C に温めた滅菌精製水 10 mL を加えます。
12. キャップをしっかりと閉め、完全に溶解するまで振とうします。
13. 培養液をインキュベーターから取り出します。1mL を採取し、水和した M-broth に添加します。
14. 36 ± 1°C で 6 時間培養します。

増菌法 4 (RV — M-broth) — 葉物野菜用

生ほうれん草でバリデーション済み³

1. 1×RV 培地 (アルミパウチ 1 袋、滅菌不要) をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42°C に温めた滅菌精製水 200 mL を加えます。
2. バッグ上部から 5~7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
3. マトリックス 25 g (室温) を 1×RV 培地入りバッグに加えます。
4. バッグ上部をしっかりと持ち、もみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
5. バッグを軽く閉じ、42 ± 1°C で 20~24 時間培養します。
6. M-broth 1 本 (Neogen 品番 9722) に、あらかじめ 36 ± 1°C に温めた滅菌精製水 10 mL を加えます。
7. キャップをしっかりと閉め、完全に溶解するまで振とうします。
8. 培養液をインキュベーターから取り出します。1mL を採取し、水和した M-broth に添加します。

9. 36±1°Cで6時間培養します。

増菌法 5 (乳糖ブイヨン培地 — RV)

1. マトリックス 25 g を乳糖ブイヨン 225 mL に加え、均質化します。
2. 36 ± 1°C で 22～24 時間培養します。
3. 培養液をインキュベーターから取り出します。0.1 mL を採取し、RV 培地 10 mL に添加します。
4. 42 ± 1°C で 22～24 時間培養します。

NEOGEN は、Neogen 社の商標です
ネオジェンジャパン株式会社

<https://www.neogen.jp/>

NEO-442-A (202602)/16405L_9706_Reveal-2-0-Salmonella_Kit-Insert_en-US

